



## Criptococose sistêmica em um canino da raça Miniatura Schnauzer

### Systemic Cryptococcosis in a Miniature Schnauzer Dog

Saulo Romero Felix Gonçalves, Órion Pedro da Silva, Mariana Lumack do Monte Barretto,  
Rômulo Freitas Francelino Dias, Raylson Pereira de Oliveira, Gabriela Gonçalves da Silva,  
Pedro Paulo Feitosa de Albuquerque, Márcia de Figueiredo Pereira & Andrea Alice da Fonseca Oliveira

#### ABSTRACT

**Background:** Cryptococcosis is an important zoonotic disease that occurs worldwide. The disease is caused by a soil-borne opportunistic fungus of the genus *Cryptococcus*, which can also be found in the feces of birds, especially pigeons. In Brazil, the geographical distribution of the agent is fairly defined, with the species *C. gattii* predominantly found in the north-eastern states. Diagnosis is based on the clinical history, physical examination findings, and results of complementary testing, such as cytopathological and histopathological examinations. This report aims to describe the clinical and anatomopathological findings in a case of systemic cryptococcosis in a dog.

**Case:** A 4-year-old female Miniature Schnauzer was referred for necropsy. For 3 months prior to death, the dog had displayed generalized alopecia, pruritus, and severe weight loss. Initially, a private veterinarian had suspected leishmaniasis. Gross examination was performed and samples for cytopathology, histopathology, and fungal culture were obtained. The macroscopic examination revealed generalized alopecia, congested mucosa, cachexia, hyperemia of the brain, and multiple white nodules measuring 0.5 cm to 4 cm in the lungs and the kidneys. None of the other organs showed significant lesions. Cytopathological examination of the nodules revealed a highly cellular sample, with a severe chronic inflammatory response, characterized by multinucleated giant cells and round-to-elliptical, yeast-shaped structures (5-10 µm), suggestive of *Cryptococcus* organisms. Histopathological examination of the lungs, kidneys, and brain revealed a severe diffuse chronic inflammatory process, with lymphocytic infiltration and multinucleated giant cells; countless yeast-shaped, round-to-ovoid structures (similar in appearance to “soap bubbles”) that were negative in hematoxylin-eosin stain were also present. Grocott’s methenamine silver stain was then applied, which positively stained the organism capsules black, confirming *Cryptococcus*. For mycological diagnosis, samples from the lungs nodules were cultured on Sabouraud’s dextrose agar supplemented with chloramphenicol 0.4% and incubated for 7 days at 25-30°C. Abundant small, smooth, irregular-sized, cream-colored colonies were obtained, and a mycological smear, stained by India ink, was performed.

**Discussion:** Considered an uncommon disease, canine cryptococcosis can be misdiagnosed. Clinical findings, such as alopecia, lymphadenopathy, and cutaneous nodules that may be ulcerated, are commonly seen in these patients due to the hematogenous spread of the organism. In the case described, the dog’s owner was contacted and asked to provide epidemiological information. The owner reported that the dog had lived in an apartment, with little access to the street; however, pigeons were frequently observed on the balcony, along with pigeon feces in the dog feeder. The presence of pigeon feces is a risk factor for the development and spread of the fungus, which may be problematic to public health. Cytopathological examination is a simple, quick diagnostic tool with good sensitivity for some infectious agents. Mycological culture can provide results due to the characteristic of the *Cryptococcus* sp., since the encapsulated yeast produces a mucous-like colony. Cryptococcosis has a relevant role in public health, so a precise diagnosis is imperative. Its diagnosis is based upon culture, cytology and serological tools. When the animal does not survive to the illness, the association between necropsy findings and histopathological examinations is essential.

**Keywords:** canine, diagnostic, yeast, anatomopathology.

**Descritores:** canino, diagnóstico, levedura, anatomopatologia.

## INTRODUÇÃO

A criptococose é uma doença causada por fungo oportunista, telúrico de distribuição mundial, sendo considerada uma importante enfermidade de caráter zoonótico [1]. O gênero *Cryptococcus* é composto por mais de 30 espécies, porém de importância clínica destacam-se as espécies *Cryptococcus gattii* (sorotipos B e C) e *Cryptococcus neoformans* (sorotipos A, D e AD) com suas variantes *C. neoformans neoformans* e *C. neoformans grubii*, sendo o *C. neoformans* a espécie mais isolada nos casos de criptococose em humanos e animais [7,8].

Locais contaminados por fezes de aves, em especial pombos, favorecem a manutenção do agente [18]. A infecção por *Cryptococcus* spp. ocorre pela inalação de propágulos fúngicos e a depender do estado imunológico do animal, pode se disseminar rapidamente e desenvolver a forma sistêmica [3], sendo os sinais clínicos dependentes da forma de apresentação. Na forma cutânea são observadas lesões ulcerativas, presença de nódulos em cavidade oral, periungueais e nasal. A forma respiratória inicia-se no trato respiratório superior, podendo evoluir, e comprometer o sistema nervoso central [1]. Na forma sistêmica, pode ocorrer o comprometimento renal, hepático, cardíaco e esplênico, além dos linfonodos regionais, tireóide, adrenal, pâncreas, ossos, músculos e próstata [15].

O diagnóstico é realizado por meio da anamnese, exame físico associado a exames complementares como citopatológico, sorológico, histopatológico e cultura fúngica [17]. O tratamento inicia-se após a identificação do agente, sendo os antifúngicos sistêmicos considerados de eleição [8].

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho, relatar os achados clínicos e anatomopatológicos de um caso de criptococose sistêmica em um cão da raça Miniatura Schnauzer.

## CASO

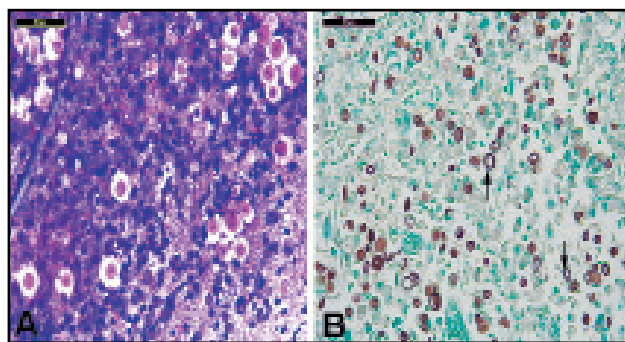
Foi encaminhado ao setor de necropsia da Área de Patologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), um cão, Miniatura Schnauzer, fêmea de 4 anos de idade. Segundo o tutor, o animal apresentava perda de pelos e prurido há 3 meses, sendo conduzido a um veterinário particular que inicialmente suspeitou de Leishmaniose, porém o teste sorológico resultou negativo, deste modo a

suspeita foi direcionada a enfermidades ocasionadas por ectoparasitos e/ou bactérias, contudo o raspado de pele foi negativo, direcionou-se então o animal a outro veterinário particular cuja suspeita clínica inicial foi de hipoadrenocorticism, pois a tutora automedicava o animal com prednisona para redução do prurido. O animal começou a perder peso e apresentava mioclônias, então, optou-se por encaminhá-lo ao Hospital Veterinário da UFRPE, porém o animal não resistiu e constatou-se o óbito, sendo este enviado para realização do exame necroscópico.

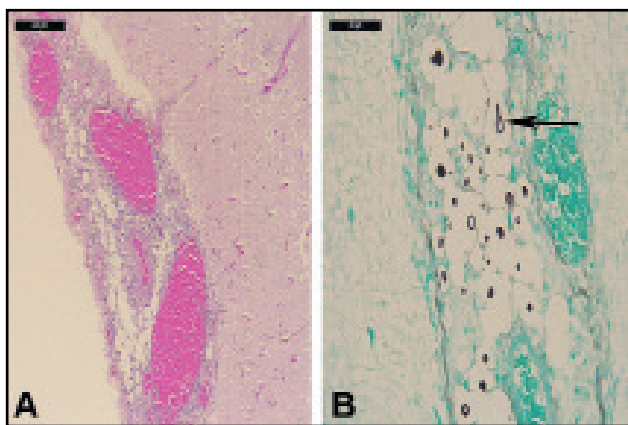
Durante o exame necroscópico, na avaliação externa, evidenciou-se a presença de alopecia generalizada, mucosas congestas, caquexia, com ausência de gordura em subcutâneo, e linfadenomegalia generalizada de linfonodos superficiais. Ao exame interno constatou-se nos pulmões e rins múltiplos nódulos difusos, brancos, variando de 0,5 a 4 cm de diâmetro, hiperemia ativa em encéfalo e demais órgãos sem alterações dignas de nota.

No momento da necropsia, foi realizado o exame citopatológico dos nódulos pulmonares pela técnica de impressão, posteriormente procedeu-se a coleta de fragmentos de pele, rim, pulmão e encéfalo, acondicionados em frascos devidamente identificados contendo solução de formol tamponado a 10%. Uma segunda amostra de um nódulo pulmonar foi coletada e enviada ao Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Área de Medicina Veterinária Preventiva da UFRPE para cultura fúngica.

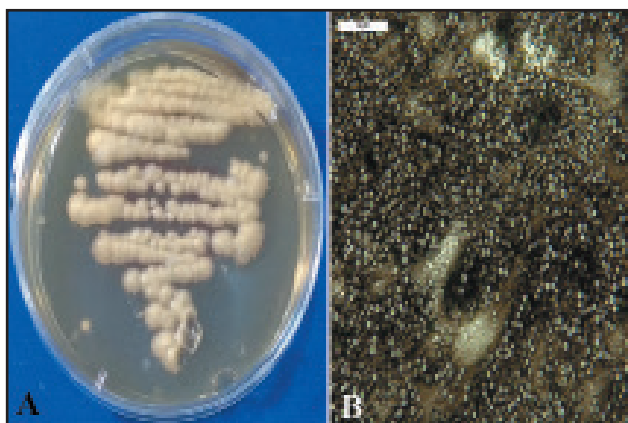
As amostras citológicas e os fragmentos de órgãos foram encaminhados ao Laboratório de Histopatologia da Área de Patologia Animal do DMV-UFRPE para processamento. No laboratório as amostras foram processadas e coradas de acordo com o protocolo citopatológico e histopatológico de rotina.



**Figura 1.** Pulmão de um cão da raça Miniatura Schnauzer com criptococose sistêmica. Exame citopatológico. A- Notar várias estruturas fúngicas arredondadas com halo claro, sugestivo de *Cryptococcus* [Panótico rápido. Barra= 50 µm]. Exame histopatológico. B- Completa invasão fúngica com aspecto de “bolha de sabão” marcação em negro [Grocott. Barra= 50 µm].



**Figura 2.** Encéfalo de um cão da raça Miniatura Schnauzer com criptococose sistêmica. Exame histopatológico. A- Congestão de meninges [HE. Barra= 200 µm]. B- Presença de infiltrado fúngico marcado em negro (seta) [Grocott. Barra= 50 µm].



**Figura 3.** Isolado de *Cryptococcus* sp. obtido de nódulo pulmonar de um cão da raça Miniatura Schnauzer com criptococose sistêmica. A- Colônias de coloração creme, forma irregular, aspecto cremoso e crescimento exuberante em meio de Sabouraud-Chloranfenicol. B- Esfregaço fúngico da amostra, corado por nanquim, evidenciando-se a presença abundante de leveduras

No exame citopatológico (Figura 1A) evidenciou-se uma amostra com alta celularidade e severo infiltrado inflamatório composto por células gigantes multinucleadas, linfócitos, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos íntegros e degenerados, além de incontáveis blastoconídeos ovais a arredondados com tamanhos variados (5-10 µm), sugerindo inicialmente o diagnóstico de criptococose.

No exame histopatológico do pulmão (Figura 1B), rim, pele e encéfalo (Figura 2), foram observados infiltrados linfohistioplasmocitários, células gigantes e inúmeros blastoconídeos com imagem negativa pela coloração Hematoxilina e Eosina (Figura 2A), além do aspecto de “bolhas de sabão” evidenciado nos órgãos. Diante do caso, realizou-se a coloração de Grocott (Figura 1B e 2B), obtendo-se marcação em negro das cápsulas fúngicas, reforçando a suspeita de criptococose.

Na cultura fúngica, foi realizada uma incisão no fragmento recebido de pulmão, em um dos nódulos, para coleta por meio de *swab* do material, sendo este posteriormente cultivado em placas de Petri contendo meio Sabouraud suplementado com cloranfenicol a 0,4%. As placas foram incubadas por cerca de 7 dias em estufa a 25-30°C, resultando em crescimento de colônias de aspecto irregular, cremoso e exuberante com tonalidade creme, compatíveis com *Cryptococcus* sp. (Figura 3A). Posteriormente realizou-se um esfregaço fúngico da amostra, corado por nanquim, evidenciando-se a presença abundante de leveduras globosas a ovaladas de brotamento único ou múltiplo e encapsuladas (Figura 3B), confirmando assim o diagnóstico de criptococose.

## DISCUSSÃO

Por ser considerada uma enfermidade incomum, a criptococose em cães pode não ser considerada inicialmente como provável diagnóstico, uma vez que os sinais clínicos apresentados pelo animal confundem-se com doenças de outras etiologias [17,20]. Tal fato foi constatado no relato em questão, uma vez que a princípio houve a suspeita de tratar-se de um caso de origem parasitária ou bacteriana e hipoadrenocorticismos.

A idade, sexo e raça não são considerados fatores predisponentes para infecção, porém o comportamento do animal influencia consideravelmente na cadeia epidemiológica da doença. Neste âmbito, os gatos são mais propensos a infecção, pois seu estilo de vida favorece o contato com o agente, ao contrário dos cães [2]. Ao analisar o histórico do animal não se detectou inicialmente uma conexão entre o comportamento deste e a possibilidade de infecção pelo agente. Entretanto, após a confirmação do diagnóstico, solicitou-se um detalhamento por parte da tutora sobre os hábitos do animal, sendo então relatado que o animal vivia em apartamento e com pouco acesso à rua, mas na varanda sempre havia a presença de pombos e fezes no prato de ração do animal.

A probabilidade de animais que possuem acesso à rua e parques, em que haja grande quantidade de pombos, infectarem-se com o agente é elevada quando comparada a animais com pouco ou nenhum acesso à rua [2,18]. Apesar de não ter acesso à rua, o animal em questão possuía estreito contato com os pombos, sendo estes frequentemente observados próximos ao local onde aquele se alimentava.

A presença de fezes de pombos na área de circulação do animal é considerada um achado preocupante, estudo conduzido em Porto Alegre, RS [10] permitiu o isolamento de *Cryptococcus neoformans* em cinco das 59 amostras de fezes de pombos analisadas. Em outro trabalho, na mesma cidade, obteve-se o isolamento do agente em 100% das 88 amostras analisadas de fezes de pombos procedentes de cinco praças [18]. A presença de fezes destas aves em locais públicos ou, como no caso em questão, com estreito contato com o animal e o humano, é considerada um fator de risco em potencial, tornando-se um problema de saúde pública e elevando o risco de infecção principalmente em indivíduos imunocomprometidos.

Os sinais clínicos tais como áreas alopecicas, prurido, nódulos cutâneos com ou sem ulcerações e linfadenomegalia, são achados frequentes em pacientes diagnosticados com criptococose cutânea, cuja ocorrência está relacionada à disseminação hematogênica do agente [8,11]. O emagrecimento progressivo e as mioclonias sugerem comprometimento do SNC, este achado também foi observado na literatura em um caso de criptococose em sistema nervoso central em cão [12]. Esses achados são similares aos observados no animal do presente relato.

O prurido relatado pela tutora possivelmente está relacionado à invasão cutânea por agentes bacterianos secundários, predispondo a um quadro de dermatite com consequente aparecimento de prurido [14].

No histórico do animal reporta-se o uso de prednisolona, fator este que provavelmente colaborou na disseminação sistêmica do agente uma vez que a tutora automedicava o animal para redução de prurido. Anti-inflamatórios corticosteróides são habitualmente utilizados no tratamento de dermatite atópica e atuam como imunossuppressores [8]. A imunossupressão é uma condição que acompanha frequentemente a infecção por *Cryptococcus* sp. favorecendo assim a instalação da doença [5].

Após a constatação do óbito, o animal foi encaminhado para realização do exame necroscópico. Destacam-se como achados anatomopatológicos a presença de nódulos cutâneos, pulmonares e renais

de aspecto firme e coloração brancacenta estando de acordo com o observado na literatura [13,19,20], do mesmo modo, as lesões evidenciadas em encéfalo, hemorragia e hiperemia ativa, corroboram com a literatura [9] porém sem a presença de nodulações.

O exame citopatológico realizado em nódulos pulmonares, no ato do exame necroscópico, permitiu a evidência de blastoconídeos ovais a arredondados com tamanhos variados, apresentando ótima sensibilidade na detecção do agente e deste modo foi primordial na suspeita inicial de criptococose, consubstanciando a utilização do exame no diagnóstico de agentes infecciosos [13,16,21].

Os achados histopatológicos representados principalmente pela presença de infiltrado linfoplasmocitário nos órgãos analisados e presença de leveduras com aspecto de “bolhas de sabão” consolidaram os resultados obtidos no exame citopatológico. Estes achados são descritos na literatura [12,16]. O aspecto de “bolha de sabão” pode ser explicado pela ausência de coloração da cápsula do agente, destacando a presença de halo ao redor deste, necessitando deste modo de colorações especiais para sua evidência. Deste modo, foi realizada a coloração especial de Grocott indicada para identificação fúngica, que permite a coloração das cápsulas em negro [4] conforme observado neste estudo.

Nas amostras encaminhadas para isolamento fúngico obteve-se o crescimento de colônias de aspecto mucóide e tonalidade creme, sendo indicativo de levedura com formação encapsulada do gênero *Cryptococcus* sp. [5,22]. A cultura fúngica consiste no diagnóstico comprobatório e definitivo da doença [6]. Deste modo, a associação dos achados anatomopatológicos e microbiológicos permitiu estabelecer de forma fidedigna o diagnóstico de criptococose, doença esta de importância à saúde pública o que torna o médico veterinário um importante promotor e multiplicador de ações educativas direcionadas ao conhecimento e prevenção da doença.

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest.

## REFERENCES

- 1 Beheregaray W.K., Pöpl A.G., Hartfelder C.C., Landell M., Valente P., Oliveira I.A., Ferreira L., Oliveira R.T., Machado M.L.S., Pigatto J.A.T., Ferreira R.R. & Mello F.P.S. 2005. Criptococose em um cão com envolvimento de linfonodos, pele, olhos e glândula mandibular. *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida*. 25(Supl): 252-253.



- 2 Castellá G., Abarca M.L. & Cabañes F.J. 2008. Criptococosis y animales de compañía. *Revista Iberoamericana de Micología*. 25(1): S19-S24.
- 3 Conceição L.G. & Santos R.L. 2010. Sistema tegumentar. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. São Paulo: Roca, pp.423-524.
- 4 Gazzoni A.F., Pegas K.L. & Severo L.C. 2008. Técnicas histopatológicas no diagnóstico de criptococose por *Cryptococcus* deficiente de cápsula: relato de caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 41(1): 76-78.
- 5 Honsho C.S., Mine S.Y., Oriá A.P., Benato N., Camacho A.A., Alessi A.C. & Laus J.L. 2003. Generalized systemic cryptococcosis in a dog after immunosuppressive corticotherapy. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 55(2): 155-159.
- 6 Kon A. S., Grumach A.S., Colombo A.L., Penalva A.C.O., Wanke B., Telles F.Q., Severo L.C., Aranha L.F., Lázera M.S., Resende M.R., Salmito M.A., Shikanai-Yasuda M.A., Moretti M.L., Silva-Vergara M.L., Andrade N.M.P., Trabasso P., Mendes R.P., Martinez R. & Ponzio V. 2008. Consenso em criptococose - 2008. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 41(5): 524-544.
- 7 Kwon-Chung K.J. & Varma A. 2006. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? *FEMS Yeast Research*. 6: 574-587.
- 8 Larsson C.E., Otsuka M., Michalany N.S., Barroa P.S.M., Gambale W. & Safatle A.M.V. 2003. Canine ocular cryptococcosis: a case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 55(5): 533-538.
- 9 Lopes T.V., Schons S.V., Vieira N.T., Pereira C.S., Rezende F.G. & Melo T.L. 2012. Criptococose disseminada em um cão. *Archives of Veterinary Science*. 17(Suppl 1): 436-438.
- 10 Machado C.C., Amaral A.A. & Severo L.C. 1993. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* isolado no solo. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 35(1): 77-79.
- 11 Malik R., Krockenberger M., O'brien C.R., Martin P., Wigney D. & Medleau L. 2006. Cryptococcosis. In: Greene C.E. (Ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd edn. St. Louis: Saunders Elsevier, pp.584-598.
- 12 Marcasso R.A., Sierra S., Arias M.V.B., Bracarense A.P.F.R.L., Yamamura A.A.M., Biasi F., Lopes B.A., Amude A.M. & Cortêz D.E.A. 2005. Criptococose no sistema nervoso de cães – relato de três casos. *Semina: Ciências Agrárias*. 26(2): 229-238.
- 13 Martins D.B., Barbosa A.L.T., Cavalheiro A., Lopes S.T.A., Santurio J.M., Schossler J.E. & Mazzanti A. 2008. Diagnóstico de criptococose canina pela citologia aspirativa por agulha fina. *Ciência Rural*. 38(3): 826-829.
- 14 Martins D.B., Deckmann M.A.J. & Sperotto V.R. 2014. Criptococose cutânea associada à severa infestação por *Sarcoptes* sp. e *Demodex* sp. em um cão. *Ciência Rural*. 44(8): 1437-1441.
- 15 Medleau L. & Barsanti J.A. 1990. Cryptococcosis. In: Greene C.E. (Ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. Philadelphia: Saunders, pp.687-695.
- 16 Pereira M.F., Santos B.M., Silva V.C.L., Pereira H.N.S., Silva L.B.G., Paiva B.H.A., Barros R.B., Dias M.B.M.C., Neves A.K.R. & Oliveira A.A.F. 2013. Aspectos clínicos e anatomopatológicos da criptococose nasal com disseminação sistêmica em cão: relato de caso. *Medicina Veterinária (UFRPE)*. 7(2): 7-15.
- 17 Queiroz J.P.A.F., Sousa F.D.N. Lage R.A., Izael M.A. & Santos A.G. 2008. Criptococose - uma revisão bibliográfica. *Acta Veterinaria Brasilica*. 2(2): 32-38.
- 18 Reolon A., Perez L.R.R. & Mezzari A. 2004. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 40(5): 293-298.
- 19 Sant'Ana F.J.F., Maia F.C.L., Gomes Filho J.B., Silveira A.B. & Silva V.R. 1999. Criptococose em felino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 51(4): 333-334.
- 20 Santos I.B., Santos S.C.S., Coutinho K.S., Cardoso L.F., Delfino A.I.S.A. & Farias L.A. 2017. Criptococose cutânea em um canino: Relato de caso. *PubVet*. 11(2): 187-190.
- 21 Souza V.L., Brandão C.V.S., Minto B.W., Estanislau C.A., Ranzani J.J.T., Babicsak V.R., Mamprim M.J., Rocha N.S. & Ribeiro M.G. 2014. Pleuris associada à criptococose em cão: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66(5): 1339-1342.
- 22 Winn Jr. W., Allen S.D., Janda W.M., Koneman E.W., Procop G.W., Schreckenberger P.C. & Woods G.L. 2008. *Koneman, Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1280p.